

MICROENCAPSULATION OF WATER-SOLUBLE POLYPEPTIDE

Publication number: JP57118512

Publication date: 1982-07-23

Inventor: JIYON SUKOTSUTO KENTO; DANII HAABEI RUISU; RINDA MERII SANDAAZU; TOOMASU ROBAATO TAISU

Applicant: SYNTEX INC

Classification:






- international: A61K9/16; A61K9/50; A61K9/56; A61K38/04; A61K38/09; A61K38/22; A61K38/24; A61K38/27; B01J13/02; A61K9/16; A61K9/50; A61K9/52; A61K38/04; A61K38/08; A61K38/22; A61K38/24; A61K38/27; B01J13/02; (IPC1-7): A61K9/50; A61K37/02; A61K37/38; B01J13/02

- european: A61K9/16H6D4; A61K9/50H6D; A61K38/09

Application number: JP19810184342 19811117

Priority number(s): US19800207864 19801118

Also published as:

 EP0052510 (A2)
 EP0052510 (A3)
 EP0052510 (B2)
 EP0052510 (B1)
 IE812695L (L)

[more >>](#)

[Report a data error here](#)

Abstract not available for JP57118512

Abstract of corresponding document: **EP0052510**

This invention concerns novel sustained release microcapsule compositions comprising water-soluble, hormonally active polypeptides and optionally, a polymer hydrolysis modifying agent encapsulated in biocompatible, biodegradable polymers such as poly(lactide-co-glycolide) copoly

Data supplied from the [esp@cenet](#) database - Worldwide

⑩ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭57—118512

⑬ Int. Cl.³

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和57年(1982)7月23日

A 61 K 9/50

7057—4C

発明の数 3

// A 61 K 37/02

7138—4C

審査請求 未請求

37/38

7138—4C

B 01 J 13/02

7203—4G

(全 12 頁)

⑮ 水溶性ポリペプチドのマイクロカプセル化

クル312

⑯ 特 願 昭56—184342

⑰ 発 明 者 リンダ・メリー・サンダーズ

⑱ 出 願 昭56(1981)11月17日

アメリカ合衆国カリフォルニア

優先権主張 ⑲ 1980年11月18日 ⑳ 米国 (US)

州パロ・アルト65サン・アント

㉑ 207864

ニオ・ロード765

㉒ 発 明 者 ジョン・スコット・ケント

㉓ 出 願 人 シンテツクス (ユー・エス・エ

アメリカ合衆国カリフォルニア

イ) インコーポレーテッド

州クパーティノ・ロツクウッド

アメリカ合衆国カリフォルニア

・ドライブ10120

州パロ・アルト・ヒルビュー・

㉔ 発 明 者 ダニー・ハーベイ・ルイス

㉕ 代 理 人 弁理士 浅村皓 外 4 名

アメリカ合衆国アラバマ州ガー

最終頁に続く

デンデル・ジャクソン・サー

明 細 書

1. 発明の名称

水溶性ポリペプチドのマイクロカプセル化

2. 特許請求の範囲

(1) 通常の一投与量より多い有効量の少くとも一種類のホルモン作用を有するポリペプチド、必要に応じて少くとも一種類の重合体水解調整剤および生物的に適合性を有し、生物的に分解可能なカプセル化のための重合体よりなり、長期間にわたって有効量の薬剤を持続的に放出させることを意図してマイクロカプセルとして調製された医薬組成物。

(2) ポリペプチドが黄体形成ホルモン放出ホルモン又はそのアナログであり、水解調整剤は有機酸、酸性塩、中性塩、塩基性塩であり、重合体はポリラクタイド重合体、ポリアセタール重合体、ポリオルソエステル重合体、又はポリオルソカーボネート重合体である特許請求の範囲第1項の組成物。

(3) ポリペプチドが下記の式で示される LH—R H

のノナペプチド又はデカペプチドのアナログおよびその医薬として許容される塩であり、

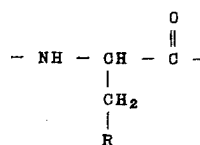
(pryp)Glu—His—V—Ser—W—X—Y—Arg—Pro—Z I

この式に於て

V はトリプトフィル、フェニルアラニル又は 3—(1—ナフチル)—L—アラニル、

W はチロシル、フェニルアラニル又は、3—(1—ペンタフルオロフェニル)—L—アラニル、

X は D—アミノ酸残基



で、

R は

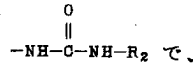
(a) 3 個又はそれ以上の直鎖の低級アルキル基で置換された、ナフチル、アンスリル、フルオレニル、フェニルアンスリル、ピフェニル、ベンズヒドリル及び、フェニル等の基から選ばれる炭素環式アリアル含有基、または

- (b) 3個又はそれ以上の直鎖低級アルキル基で置換されたシクロヘキシル基及びパーヒドロナフチル基、パーヒドロピフェニル基、パーヒドロ-2,2-ジフェニルメチル基、アダマンチル基、の中から選ばれた飽和炭素環式基であり、

Yはロイシル、イソロイシル、ノルロイシルまたはN-メチルロイシルであり、

Zはグリシンアミド又は $-\text{NH}-\text{R}_1$ で、

R_1 は低級アルキル、シクロアルキル、フルオロ低級アルキル又は



R_2 は水素又は低級アルキルである特許請求範囲第1項の組成物。

- (4) 重合体として、ポリ(ラクタイド-コ-グリコライド)共重合体を使用し、共重合体のラクタイド-グリコライドのモル比が100:0と40:60%の間にあり、共重合体の平均分子量が、 $\times 20,000$ と $100,000$ の間にある特許請求範囲第3項の組成物。

求の範囲第6項の組成物。

- (8) ポリペプチドが、(L-Pro)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-3-(ナフチル)-D-アラニル-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂及びその医薬として許容される酸性塩である特許請求の範囲第7項の組成物。

- (9) 注射可能な粒子の径が、0.1から500ミクロンである特許請求の範囲第1項の組成物。

- (10) 非経口投与に適した医薬として許容される担体に分散された特許請求の範囲第1項の組成物。

- (11) 特許請求の範囲第1項の組成物の有効量を哺乳動物に投与することにより、哺乳動物の生殖に影響を与える方法。

- (12) カプセル化に使用する重合体を含むハロゲン化有機溶媒中にポリペプチド及び必要に応じて重合体水解調整剤を含む水溶液を分散させ、この分散液にコアセルベーション剤を加え、マイクロカプセルを固化し、その溶液よりマイクロカプセルを採取し、マイクロカプセルを洗滌し、マイクロカプセルを乾燥することにより成る、特許請求の範囲第1項の組成物の製造方法。

- (5) ポリペプチドの量が、重合体の0.01と

40.0重量%の間にあり、水解調整剤の量が重合体の1から15重量%の間にある特許請求の範囲第4項の組成物。

- (6) ポリペプチドに於て

Vがトリプトフィル又はフェニルアラニル、

Wがチロシル、

Xが3-(2-ナフチル)-D-アラニル又は3-(2,4,6-トリメチルフェニル)-D-アラニル、

Yがロイシル又はN-メチルロイシル、そしてZがグリシンアミド又はNH₂であり、水解調整剤がクエン酸、塩化アンモニウム、塩化ナトリウム又は炭酸ナトリウムであり、重合体が、ラクタイド-コ-グリコライドでモル比が75:25と50:50%の間にある特許請求の範囲第4又は5項いずれか一つの組成物。

- (7) ポリペプチドの量が0.1から10.0重量%であり、水解調整剤の量が5から10重量%であり、重合体のモル比が50:50%である特許請

3.発明の詳細な説明

本発明は生物学的に分解可能で、生物学的に適合性を有する共重合物を賦形剤として、少なくとも1種類の水溶性でホルモン作用を有するポリペプチドと、必要に応じて、重合体水解調整剤を含む内容物をカプセル化することより成るマイクロカプセル組成物に関する。

この組成物は持効性を有している。更に具体的には、内容物として、黄体形成ホルモン放出ホルモン又はそのアナログのような哺乳動物の生殖に影響を及ぼすために有用な、水溶性のポリペプチドや必要に応じては、有機酸や酸性、中性、又は塩基性の塩など、賦形剤として用いる重合体の水解を調整する物質を含み相分離法により、賦形剤であるポリ(ラクタイド-コ-グリコライド)共重合体によつてカプセル化することに関するものである。

このマイクロカプセルは特に非経口的に投与した時に薬剤の長時間の持効性を示す。

従来技術

薬剤に遅効性や持効性を付与するための重合体と薬剤の組合せについては数多く報告されている。

例えば、米国特許3,773,919は芯物質として水溶性ポリペプチド抗生物質などの薬剤をポリラクタイド／グリコライド共重合体又は類縁の重合体によつてカプセル化することより成る、薬剤の放出を調整する組成物を開示している。酵素、ホルモン、ワクチン、及びその他の生物学的物質の持効性のためのマイクロカプセル化については、Chang, Thomas, J. Bioeng. Vol 1 pp 25-32, 1976で論じてある。ポリラクチック酸による水溶性蛋白質のカプセル化については、特に、アスパラギナーゼやインシュリンを組成物とするいろいろな例が述べられている。

ポリラクチック酸重合物、ポリラクタイド／グリコライド共重合物或いはポリグリコール酸重合物及び関連物質は医薬品を包みこんで、持効性を付与することによつて手術用エレメント又は類似物を調製するために使用されている例としては米国特許3,991,776； 4,118,470；

その物質は、低分子量で毒性のない有機酸及び中性又は塩基性塩である。

カプセル化に使用する材料は、ポリ(α-ヒドロキシカルボキシル酸)、ポリ(ラクトン)、ポリ(アセタール)、ポリ(オルソエステル)或いはポリ(オルソカーボネート)のような合成重合体である。

このような組成物を調製する方法も開示されているが、この方法には相分離法が含まれて居り、それによつてカプセル化用の重合体は、ペプチドと水解調整剤を含む水滴上に沈澱し、カプセル化用の重合体を溶解しないコアセルベーション剤を加えることによつてウォーター・イン・オイルエマルジョンとして分散される。カプセルは次に固化され、洗滌され、乾燥される。

発明の詳細な記述

ホルモン作用を有するポリペプチドとは種々の内分泌腺より分泌されるもの、及び内分泌腺より分泌はされないが同様の作用を有する物質によつて示されるような一定の身体器官に対して特異

4,076,798を参照されたい。

発明の要約

本発明の組成物は、ホルモン作用を有するマイクロカプセルの処方で、少なくとも1種類のホルモン作用を有するポリペプチドと必要に応じては、重合体水解調節物質を生物的に適合性を有し、生物的に分解可能な重合体と十分に混合又はそれによつて被覆したもので哺乳動物に投与すると予め定められた期間ホルモンの関与する状態を保つ効果を有する量のポリペプチドを毎日放出するものである。

ホルモン作用を有するポリペプチドとしては、黄体形成ホルモン放出ホルモン(LH-RH)ポリペプチド及びそのアナログを示す。ホルモンの関与する状態とは、生殖の調節とそれに関連した生理的効果の調節である。

この組成物には必要に応じて1種類又は、それ以上の重合体-水解調節剤が含まれる。そのような薬剤は、存在する場合重合体の水解の速度を減少又は増加させる。

的な調節作用を有するペプチドである。

本発明のホルモン活性ポリペプチドは、内分泌腺より分泌されるポリペプチド、或いは特定の腺で産生されるものではないが、同様の活性を有するポリペプチドの何れであつても差支えない。特に興味のあるものとしては、天然に存在する黄体形成ホルモン放出ホルモン(LH-RH)ポリペプチド及びその合成アナログである。

天然に存在するLH-RHペプチドは脳の視床下部で産生され、下垂体前葉に作用して、黄体形成ホルモンと卵胞刺激ホルモンを放出し、次にそれ等が、生殖腺に作用してステロイドホルモンの合成を促進し、配偶子の成熟を促進することによつて、哺乳動物の生殖周期を調節する。

このようにして、LH-RHが脈動的に放出されて哺乳動物の生殖周期を調節する。更にLH-RHは胎盤にも作用してHCG(絨毛性性腺刺激ホルモン)を放出し、直接生殖腺にも作用する、LH-RHの類合的アナログは、二種類の作用機構で妊娠を調節する。低い投与量のLH-RHア

ナログは排卵を促進し、視床下部又は排卵に原因する不妊症の治療に有効である。その他に、それは性腺機能低下やインポテンツに対し、男性の精子形成やアンドロジェン産生の促進のために使用される。逆説的なこととして活性が高く、持続性のあるLH-RHのアナログを多量に投与すると反対の効果を示し、女性に於て排卵を阻止し、男性に於ては精子形成を抑制する。これ等の効果に関して、生殖腺由来の性ステロイドの正常の流通レベルの抑制や、男性及び女性の生殖器重量の減少が起る家畜にの場合、この逆説的効果は給餌場に於ける体重増加を促進し、一般的に妊娠中の動物の流産を促進し、化学避妊剤として作用する。この逆説的な多量投与効果の全容は、1979年6月11日出願の米国特許出願47,661に示されて居り、参考資料としてここに引用する。

LH-RHアナログには拮抗物質と呼ばれるグループのものもある。これ等のポリペプチドはLH-RH競合物によつて示された逆説的効果を天然に存在するLH-RHに比して低い投与水準

で有している。そのような化合物も、本発明の範囲に含まれる。

天然のホルモン放出ホルモンであるLH-RHは、10個の天然に存在するアミノ酸(非キラルなアミノ酸であるグリシンを除いてはL-配位)より成るペプチドである。その配列は次の通りである：(ピロ)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂ この天然物の多くのアナログが研究されている。それ等のアナログの好ましい効果は変化している。競合物に関する最も有意義な変換は、第6位のアミノ酸残基であるGlyをD-アミノ酸、例えばD-Ala、D-Leu、D-Phe又はD-Trpに変えることである。拮抗的な活性は、天然型の第2位のアミノ酸残基であるHisをD-アミノ酸残基に変えることによつて最大のものが得られる。これ等のアナログは、LH-RHに比して増強した活性を示す。第6位の変換に加えて増強された活性は次の変換によつて得られる。すなわち、第10位をアルキルアミンシクロアルキルアミン、フルオロアルキルアミンに変換してノナ

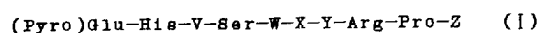
ペプチドとすることや、Gly-NH₂をα-アザグリシンアミドで置換すること、第7位のロイシンのN-メチル-ロイシンによる置換、第3位のトリプトファンのもろ(1-ナフチル)-L-アラニンによる置換、第5位のチロシン残基のフェニルアラニン或いは、3-(1-ペンタフルオロフェニル)-L-アラニンによる置換、及び第6位の2つ又はそれ以上の炭素環(又はパーヒドロアリル環)又は高度にアルキル基によつて置換されたフェニル(又はシクロヘキシル)環を含む非天然型のD-アミノ酸残基による置換などである。これ等の各々の化合物は現在までに開発されたより有用な、生殖に影響するLH-RH型のポリペプチドを代表するものである。これ等は、これ迄に製造されたもの又はその可能性のある総ての化合物を網羅したものでも、限定するものでもない。

単に本発明の対象となる化合物のタイプの例として述べたものである。それ等のうちの何れか又は総てのものは本発明の組成に相互に置換えて使

用することが可能である。

本発明に於て特に重要なものは、上述の化合物のうち、天然に存在するLH-RH物質の第6位が、親油性の炭素環式残基、特に2つ又はそれ以上に高度にアルキル置換された炭素環式芳香環(又は、パーヒドロアリル環)又はフェニル(又は、シクロヘキシル)環を含む特定の非天然型D-アミノ酸残基で置換されたものである。これ等特定のポリペプチドは、1979年7月11日出願の米国特許出願47,661の主題となつて居り、そこに示された方法に従つて調製することができる。

更に詳細に述べると、本発明に於て特に重要な生殖に影響を及ぼすポリペプチドは次の式で示すノナペプチド及びデカペプチド及び、それ等の医薬として許容される塩である：

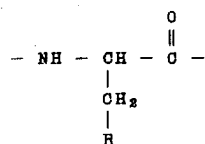


この式に於て、

Vはトリプトフィル、フェニルアラニン、又は3-(1-ナフチル)-L-アラニンであり、

Wはチロシル、フェニルアラニル又は3-(1-ペンタフルオロフェニル)-L-アラニルであり、

XはD-アミノ酸残基



であつて、Rは

- (a) 3個又はそれ以上の直鎖の低級アルキル基で置換された、ナフチル、アンズリル、フルオレニル、フェナンスリル、ピフェニル、ベンズヒドリル及びフェニル等の基から選ばれた炭素環式アリール含有基、或いは
- (b) 3個又はそれ以上の直鎖低級アルキル基で置換されたシクロヘキシル基及びパーヒドロナフチル基、パーヒドロピフェニル基、パーヒドロ-2,2-ジフェニルメチル基、アダマンチル基の中から選ばれた飽和炭素環式基であり、

Yはロイシル、イソロイシル、ノルロイシル、又はN-メチル-ロイシル；

Zはグリシンアミド又は-NH-R₁であり、

R₁は低級アルキル、シクロアルキル、フルオロ低級アルキル又は



R₂は水素又は低級アルキルである。

本発明に於て好ましい化合物としては、Xが3-(2-ナフチル)-D-アラニル又は3-(2,4,6-トリメチルフェニル)-D-アラニル、Zがグリシンアミン、Yがトリプトフィル又はフェニルアラニル、Wがチロシル、Yがロイシル又はN-メチル-ロイシルのものである。

特に好ましい化合物は、

(pyro)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-3-(2-ナフチル)-D-アラニル-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂、

(pyro)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-3-(2-ナフチル)-D-アラニル-N-メチル-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂、

(pyro)Glu-His-Phe-Ser-Tyr-3-(2-ナフ

チル)-D-アラニル-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂、

(pyro)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-3-(2,4,6-トリメチルフェニル)-D-アラニル-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂、

(pyro)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-3-(2-ナフチル)-D-アラニル-Leu-Arg-Pro-NH₂、

(pyro)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-3-(2-ナフチル)-D-アラニル-N-メチル-Leu-Arg-Pro-NH₂及びそれ等の医薬として許容される塩である。

最も好ましいものは(pyro)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-3-(2-ナフチル)-D-アラニル-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂及びその薬学的に許容される塩である。

以上の記載に於て、化合物の記載の便宜上各アミノ酸の慣例的な略号を使用した。これはBiochemistry, 11, 1726(1972)に於てIUPAC-IUB生化学命名法委員会が勧告し、ペプチドの分野で使用されているものである。なお、アミノ酸はXで示された第6位の非キラル的なア

ミノ酸を除き、L-アミノ酸を示す。ここに示されたペプチドの配列は、一般に認められた慣例に従つてN末端のアミノ酸を左側に、C末端のアミノ酸を右側に示した。Etという略号は1価のエタンを示す。

ここに使用した「医薬として許容される塩」は原化合物の望ましい生物活性を保持し、好ましくない毒作用を付与しない塩を示す。そのような塩の例は、前述の米国特許出願047,661に示されて居り、ここに引用されている。

ここに使用した「低級アルキル」という語句は例えばメチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、第2級ブチル及び第3級ブチルのような炭素原子数1から4の直鎖又は分岐飽和炭化水素基を示す。「シクロアルキル基」という語句は、例えばシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、及びシクロヘキシルのような炭素原子数3から6の環状飽和炭化水素基を示す。「フルオロ低級アルキル」という語句は、低級アルキル基に於て1個又はそれ以上

の水素原子が弗素で置換されたもので、例えば、トリフルオロメチル、ペンタフルオロエチル、2, 2, 2-トリフルオロエチルのようなものを示す。

ここに使用した「ナフチル」は1-及び2-ナフチルを、「アンスリル」は1-, 2-及び9-アンスリルを、「フルオロエニル」は2-, 3-, 4-及び9-フルオロエニルを、「フェナンスリル」は2-, 3-及び9-フェナンスリルを、「アダマンチル」は1-及び2-アダマンチルをそれぞれ示す。

ここに使用した「生殖に影響を及ぼすポリペプチド」という語句は天然に存在するLH-RHポリペプチド、合成で得られた同一の物質、合成的に得られた天然のLH-RHポリペプチドのアナログで、下垂体前葉に何等かの作用を及ぼして黄体形成ホルモン(LH)及び卵胞刺激ホルモン(FSH)の放出効果を有するもの、及び特にそのようなポリペプチドで排卵を抑制するもの又はメスの哺乳類に於てエンドメトリオーシス(endometriosis)の治療に有効なもの、又は良

性の前立腺肥大症の治療に有効なもの及び、オスの哺乳類に於て精子形成を阻害するもの等を意味すると理解すべきである。

本発明の組成はホルモン作用を有するポリペプチドを期待する効果に応じてさまざまな量で含むものである。不妊症の治療は低レベルの薬剤を必要とするが、避妊やそれに関連した効果のためには天然に生ずるLH-RHに比して高い投与量を必要とする。拮抗物質による生殖の調節には、被験者が1日当たり約0.01から100 µg/kg体重、より好ましくは、0.1から5.0 µg/kg体重の薬剤投与を受けるようにマイクロカプセルを調製することが好都合である。

本発明の組成物は、ポリペプチドが、カプセル化に使用する重合体の0.01から40.0重量%の範囲の量を含むように処方されるが、ペプチドは0.1から10.0重量%の間の量であることがより好ましい。

それぞれの処方に加える薬剤の量は、所要の1日投与量のみならず、投与水準が保たれるべき日

数にも依つて定められる。薬剤の量は経験的に計算することができるが実際に薬剤が放出される量は、カプセル化に使用する重合体の分解性に依りて定まるものである。従つてここに示された薬剤の重量%は、それぞれの重合体と共に投与されると望ましい薬剤の放出状況が得られる量となつてゐる。

必要に応じて重合体の分解速度に影響を及ぼす化学物質をポリペプチドを含む水溶液中に、重合体賦形剤によつてカプセル化される前に溶解してもよい。そのような化学物質は重合体水解調整剤と呼ばれる。その物質が存在すると、マイクロカプセルから薬剤の放出される速度は増加又は減少する。このような作用は、重合体の組成や大きさとは関係がない。

このような効果を実現させるためには4つのタイプの化学物質を使用することができる。例えば有機酸、及び酸性、中性、塩基性の塩である。

低分子量のモノ及びジカルボン酸としては、酢酸、酒石酸、クエン酸、グルコン酸、修酸、アス

コルビン酸、コハク酸及びそれ等の塩その他の類似した物質を使用することができる。

塩基性塩としては例えば、硫酸アンモニウム、塩化アンモニウム、硝酸アンモニウム、重硫酸ナトリウム、その他がある。有効な中性塩としては、例えば、塩化ナトリウム、塩化カリウム、臭化ナトリウム、臭化カリウム、塩化カルシウム、塩化マグネシウムその他のような金属のハロゲン化物がある。塩基性塩には、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、第三リン酸ナトリウム、第三リン酸カリウムその他も含まれる。これ等の化合物のうちでは、クエン酸、塩化ナトリウム、或いは炭酸ナトリウムの何れかが最も好んで用いられる。

これ等の化合物の組合せによつても目的とする効果は得られるであろうが、ここに記載する組成に於てはそれぞれの組成に於て1種類の物質が使用される。

水解調整剤を使用する場合には、重合体の量の0.1から20重量%のものが加えられるが好ましくは、5から10%である。

本発明の実施に際して効果的に用いられるカプセル化の賦形剤の種類と数は、その素材が、生物学的適合性を有し、生物学的に分解可能であるという要求によつてのみ制約される。即ち、重合体は投与対象に対して毒性がなく、体内に於て、有害又は、好ましくない作用を持たない代謝物質に分解されることが必要である。これ等の重合体はまた、水溶性の薬剤を含むマイクロカプセルを形成することができることが必要である。

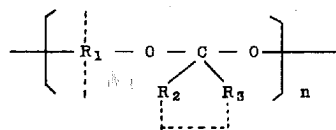
このような基準に合致する重合体は数多く開発されている。種々な組合せのアルファヒドロキシカルボン酸とラク톤を縮合してそのような重合体を作ることができる、とりわけ、乳酸とグリコール酸とそれ等の組合せが行われる。例としては米国特許 3,773,919 を参照されたい。同様な生物学的に適合性のある重合体としてグリコール酸とグリセロール及びそれに類似したものも知られている。それ等の組成の例としては米国特許 3,991,776 ; 4,076,779 及び 4,118,470 を参照されたい。

る構造の繰返したものがある。この一般式に於て、 R_1 は多価炭化水素遊離基で、 R_2 と R_3 は、その何れかが酸基結合によつてジオキシカーボンと結合した炭化水素遊離基であつてその重合体はポリオールと、オルソエステル又はオルソカーボネートと反応することによつて合成される。この重合体の正確な組成、調製法及び性質については、米国特許 4,093,709 及び 4,138,344 に記されて居り、こゝに記載する代りに参考文献として引用する。

その他に好ましいものとして、ビニルエステルとポリオールの縮合に基づくものがある。この化合物はポリオールとジケテンアセタールを反応させてポリアセタールとすることによつて製造される。この重合体に関するより詳細な記述と討論は、Polymer Letters, J. Heller, et al, 18, 293 (1980) にあるのでこゝに参考文献として引用する。同様に重要なものとして、上述のポリアセタールの製造に用いた合成法を改変して製造したポリオルソエステルがある。この重合体は、ジ

ポリオルソエステルとポリオルソカーボネートから誘導された種々の生物学的適合性を有し生物学的に分解される重合体も本発明を実施する際に、カプセル化の賦形剤として使用することができる。後者の重合体については米国特許 4,093,709 及び 4,138,344 に記載されている。更にこの目的に有用なポリアセタールやポリオルソエステルも知られて居り、Polymer Letters 18, 293 (1980) に記載されている。こゝに記載したものは、本発明の範囲と目的に適合した重合体のすべてではなく、単に、使用可能な重合体賦形剤のタイプの例を示したに過ぎない。

重合体賦形剤の中で好ましいグループとしてはオルソエステル及びオルソカーボネート重合体で、炭化水素遊離基と一般式



で示される対称的なジオキシカーボン単位より成

ケテンアセタール-ジオール縮合物より成るものである。例えば、ジケテンアセタール 3,9-ビス-(メチレン)-2,4,-8,10-テトラオキサスピロ〔5,5〕ウンデカンを、1,6-ヘキサンジオールと縮合してポリオルソエステル重合体を製造するが、これは生体内で分解される性質を有し、本発明の組成に使用するのに適している。この化合物の製造法や重合体の性質については、米国特許 4,093,709 ; 4,131,648 ; 4,138,344 及び 4,180,646 に記されておりこゝに参考文献として引用する。

最も好ましいものとしては、アルファヒドロキシカルボン酸と関連したラクトンとの縮合によつて誘導された重合体がある。最も好ましい重合体賦形剤はアルファヒドロキシ酸から誘導され、特に乳酸、グリコール酸又は両者の混合物から誘導される。

より好ましい賦形剤を調製するアルファヒドロキシ酸単位は光学活性型(D-及びL-)、光学不活性型(DL-、ラセミ)の何れであつてもよ

い。例えば乳酸は主重合体の成分又は共重合体の成分としてD-乳酸、L-乳酸、又はDL-乳酸の何れであつてもよい。好ましい重合体を製造する際には、その他の共単量体として例えば、03から018までのカルボキシル酸や、ラクトンを使用することもできる。そのような化合物の例としては、3-プロピオラクトン、テトラメチルグリコリド、6-ε-ピロラクトン、4-ε-ピロラクトン、ピペロラクトン及び、α-ヒドロキシ酪酸、α-ヒドロキシイソ酪酸、α-ヒドロキシバレリアン酸、α-ヒドロキシイソバレリアン酸、α-ヒドロキシカプロン酸、α-ヒドロキシ-α-エチル酪酸、α-ヒドロキシイソカプロン酸、α-ヒドロキシ-3-メチルバレリアン酸、α-ヒドロキシ-ヘプタン酸、α-ヒドロキシシクロタノン酸、α-ヒドロキシデカン酸、α-ヒドロキシミリスチン酸、α-ヒドロキシステアリン酸及び、α-ヒドロキシリグノセリン酸などの分子間環状エステルがあるこれ等の化合物は何れも共単量体として、使用可能な重合体の製造に用いることが

できる。3-ε-ピロラクトンは単独の単量体として或いは上記の何れかの共単量体と共に主たる単量体として使用することができる。しかしながら最も好ましいのは、乳酸を単独の単量体として或いは、乳酸を主たる単量体、グリコール酸を共単量体として使用することである。

ポリラクタイドという語句は、上述の好ましい単量体の一つ又はそれ以上のものから調製された重合体全般を意味し、重合体に於て、単一のアルファヒドロキシ酸又はラクトンが唯一の単量体であるものも含む。最も好ましい重合体として、賦形剤が乳酸単量体のみから成るか、乳酸が主単量体でグリコール酸が共単量体であるものは、ポリ(ラクタイド-コ-グリコリド)共重合体と称する。使用される単量体と共単量体の組合せは、数多くあるが最も効果的な賦形剤は、乳酸のみから調製された重合体又は、乳酸とグリコール酸から成り、グリコール酸は共単量体としてモル比で100:0から40:60含まれているものである。ポリ(ラクタイド-コ-グリコリド)共

重合体としてモル比が約75:25%と50:50%の間のものは最も使用に適している。

ポリ(ラクタイド-コ-グリコリド)重合体は、分子量が平均で約20,000から約100,000の範囲にある。

共重合体の分子量は、単量体の構成には関係がない。例えば、50:50%の共重合体の分子量は、この範囲に含まれる。従つて重合体については、その単量体の構成並びに、分子量を変更しても本発明の目的と範囲に合致させることができる。

本発明の目的のために、重合体の相対的な分子量を特定の溶媒中で特定の温度に於ける固有粘度によつて表わすことにする。重合体の粘度は、クロロホルム或いは、ヘキサフルオロイソプロパノールを用いて30°Cに於てキャピラリー粘度計によつて測定する、その結果は η_{sp}/c (dl/g)で表わす。固有粘度と分子量は直接関係づけられている。

ポリラクタイド重合体の調製法は米国特許3,773,919に記してあり、そのような重合体

の製造のための参考となるのでここに参考文献として引用する。上述の種々のペプチド、重合体水解調整剤、カプセル化用の重合体賦形剤の如何なる組合せによるマイクロカプセルの調製も、米国特許3,773,919に記された基本技術に準じて行うことができる。その際に使用される方法の詳細な記述もその資料に記されている。

方法を簡潔に述べると、重合体をハロゲン化炭化水素溶剤に溶解し、薬剤の水溶液をこの重合体の溶剤溶液中に分散させる、次に、ハロゲン化炭化水素溶剤に溶解するが、カプセル化賦形剤を溶解しない物質を加える。このコアセルベーション剤と呼ばれる物質の添加によつて、賦形剤はハロゲン化炭化水素溶剤より分散している小さな水滴の表面に析出し、ポリペプチドをカプセル化する。例えば、ポリ(ラクタイド-コ-グリコリド)をメチレンクロライド溶解する。ポリペプチドの水溶液を溶剤-重合体溶液中に攪拌しつゝ添加し、油中水型エマルジョンを形成させる。これに、シリコン油のような溶剤に混和する物質を

攪拌しつゝ、ゆつくりと加え、賦形剤を析出させて分散した小水滴を被覆し、マイクロカプセルを調製する。

ハロゲン化有機溶剤としては例えばメチレンクロライド、エチレンジクロライド、エチレンクロライド、2,2,2-トリクロロエタン、その他のような0.1から0.4までのハロゲン化アルカンの大部分のものを使用することができる。

カプセル化用重合体としては、溶剤に混和する高分子系、鉱物油系又は植物油系の化合物でカプセル化用重合体を溶解しないものは使用できる。例えばシリコン油、ピーナツ油、大豆油、コーン油、綿実油、ココナツ油、アマニ油、鉱物油その他の関連した油は使用できる。マイクロカプセルは形成された後、アルカン系の有機溶剤で洗滌、固化し、水洗し、非イオン性界面活性剤で洗滌し、真空中で室温に於て乾燥される。

マイクロカプセルの径は使用した方法によつて約1から500ミクロンの範囲となる。本発明に於てはマイクロカプセルの径は、5から200ミ

クロンであることが好ましい。調製されたマイクロカプセルは、望ましい経路、又は方法によつて被験者に投与される。最も有効な経路は注射による非経口投与で皮下又は筋肉注射が最も望ましい。

カプセルを注射によつて投与する場合には先ず毒性のない懸濁剤に懸濁する。注射用のマイクロカプセル懸濁液の精密な組成は、薬剤の投与量、懸濁剤の懸濁能力、特定の部位、又は特定の被験者に注射する溶液の量などによつて定められる。

本発明の組成物は、カプセル化された化合物を長期間持続的に放出する、その期間はカプセル化賦形剤の組成、分子量、カプセルの径、重合体水解調整剤の存在等によつて1ヶ月から3年に及ぶ。望ましい、放出期間は約1ヶ月から24ヶ月である。

次の例は本発明の組成と方法を示すものである。

例1

本例は、ポリペプチドが、(pyro)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-3-(2-ナフチル)-D-アラニル-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂(D-Nal(2)⁶LH-RH)で1.4

重量%含有し、重合体水解調整剤は含まず、賦形剤は50:50%モル比のポリ(ラクタイド-コ-グリコライド)共重合体で、ヘキサフルオロイソプロパノール中での固有粘度が30℃で0.38 dl/gのものであるマイクロカプセルの調製方法について述べたものである。

4gの賦形剤を196gのメチレンクロライドに溶解した。この溶液は2.5インチのテフロン製タービン型攪拌子を有しフィッシャー社の"ステディスピード"モーターで駆動される攪拌機

(true-bore stirrer)を備えた300ml容の樹脂製容器に収めた。0.0571gのポリペプチドを1ドラム容のガラスバイアル中に1.34gの脱イオン水中に溶解し、この溶液も樹脂製容器に加えた。この溶液を添加する際に、うすい重合体溶液は3200rpmで、油中水型エマルジョンを形成するように攪拌した。この速度で攪拌を続け、80mlのシリコン油をペリスタルタイツクポンプを用いて4.0ml/分の速度で添加した。シリコン油は重合体の相分離を起させ、溶剤によつて膨潤

した重合体を小滴として、水とポリペプチドの微小滴の表面に沈着させたその溶剤で膨潤した重合体の小滴は連続した薄層を形成し水とポリペプチドの微小滴に懸着したマイクロカプセルは、樹脂製の容器の内容物を2000mlのヘプタンを消したビーカー中に注ぐことによつて固化させた。この混合物は、1000rpmで30分間、ステンレススチールの攪拌子で攪拌した。ヘプタン-メチレンクロライド-シリコン油の混液は、プフナーロートを用いてワットマン#41紙で濾すことによつて除去した。マイクロカプセルは100mlのヘプタンによつて繰返し洗滌し、シリコン油の完全な除去を確認した。マイクロカプセルは、脱イオン水で洗滌した後ツィーン20の1%水溶液で洗滌し、室温で真空乾燥した。この方法で調製したマイクロカプセルは直径が10~40ミクロンに分布していた。上記の方法で調製したポリペプチドを包含するマイクロカプセルは、懸濁剤に懸濁し、メスのSprague-Dawleyラットとメスのベンガルザルに1回皮下注射を行つた。発情抑制

の長さは、抑制を示した動物の比率に対して計算された。サルによる実験結果は第1表に示した。各データの列は1つの被験体を示す、注射した量は表に示した。マイクロカプセルはLH-RHアナログと、30℃に於てヘキサフルオロイソプロパノール中に於ける固有粘度0.38 dl/g でモル比50:50%の共重合体(PLA:PGA)を用いて重合体に対するペプチドの比率を1.4%として例1の方法で調製した。マイクロカプセルの粒径は10~40 μm の範囲であつた。

第1表

PLA:PGA マイクロカプセルから放出される
D-Nal(2)⁶LHRH のベンガルサルの排卵に及ぼす

効果

動物/No	投与量	月 経 周 期		
		投与前	投与中	投与後
1.	---	25	30	28
2.	---	28	27	26,29
3.	1 mg			
	D-Nal(2) ⁶	30	67	27
4.	1 mg			
	D-Nal(2) ⁶	24	83	27

50:50%モル比のポリ(ラクタイド-コーグリコライド)に対し、1.4%のポリペプチドをマイクロカプセル化し粒径が10~40 μm (ヘキサプロピルイソプロパノール中の固有粘度0.38 dl/g)で懸濁剤(組成は例Ⅲに示されている)に懸濁したD-Nal(2)⁶LH-RH の一回投与量300 μg を10匹の成熟したメスのSprague-Dawley ラットに皮下注射した。発情は毎日膣のスマー(Smear)分析によつて判定した。すべてのラットは投与後第24日まで発情の抑制を示した。25日目に40%が発情を示し、27日目までにすべての動物に発情が認められた。

例2

第2表は、ポリペプチドを含むマイクロカプセルの種々の例で、ラクタイド-グリコライドのモル比、固有粘度で示した分子量、攪拌速度、シリコン油の添加速度、シリコン油の添加量、などのパラメーターを変化させたものである。カプセル化したポリペプチドは例1で述べたものと同じである。この試料の調製には、攪拌速度やシリ

コン油添加速度などを除いて例1で述べた調製法を用いた。

第 2 表

バッチ	賦形剤の 固有粘度 dl/g	ラクタイト：グリコライド モ ル 比	ポリマー (g)	ペプチド (g)	シリコン油		攪拌速度 R P M	カプセルの サイズ μm
					添加量 (ml)	添加速度 (ml/min)		
A	0.47 ²	75 : 25	2.0	0.0266	40.0	2.0	1000	40.5% 45 μm 44.4% 45 μm
B	0.97 ²	68 : 32	2.0	0.0255	40.0	4.0	3600	14.0% 45 μm 77.0% 45 μm
C	0.38 ¹	50 : 50	2.0	0.0263	40.0	4.0	3000	10 - 30
D	0.38 ¹	50 : 50	2.0	0.0279	40.0	4.4	3000	8 - 25
E	0.38 ¹	50 : 50	2.0	0.0297	135.0	2.0	1000	45 - 90
F	1.52 ¹	50 : 50	2.0	0.0253	40.0	4.0	3000	80 - 160

1 ヘキサフルオロイソプロパノール中で30℃に於ける固有粘度

2 クロロホルム中で30℃に於ける固有粘度

上記の各バッチに於て次の溶剤と23 ounce が用いられた。

ペプチドの溶解—0.67 mlの脱イオン水

カプセル化溶液—98 mlのメチレンクロライド

例 3

次に記すのは本発明の方法によつて調製された、ポリペプチドを包含するマイクロカプセルの非経口的な投与のための処方である。(pyro)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-3-(ナフチル)-D-アラニル-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂を1% (重量)の濃度で含み、賦形剤の重合体がポリ(ラクタイト-コーグリコライド)でモル比が50:50%でヘキサフルオロイソプロパノール中で、30℃に於ける固有粘度が0.38 dl/gであるマイクロカプセルを次に示す組成の溶液に懸濁した。

NaOMC 0.5 %

NaCl 0.8 %

ベンジルアルコール 0.9 %

ツイーン80 0.1 %

純水を加えて 100 %とする

例えば330 μg のマイクロカプセルを5.5 mlの溶液に懸濁すると、0.5 mlの注射用懸濁液当り、

300 μg を注射投与することができる。

上述の記述や具体的な実施態様は、本発明の範

囲と実施について具体的に示したもので本発明の実施を限定するものではない。

代理人 浅 村 皓
外 4 名

第1頁の続き

⑫発 明 者 トーマス・ロバート・タイス
アメリカ合衆国アラバマ州バー
ミンガム・オーバーランド・ド
ライブ1305